

Beiträge zur Mikrochemie der Flechten.

Von Dr. **K. B. J. Forssell,**

Oberlehrer an dem Gymnasium in Karlstad in Schweden.

(Arbeiten des pflanzen-physiologischen Institutes der k. k. Wiener Universität. XXXII.)

Innerhalb der beschreibenden Lichenologie spielen nunmehr gewisse chemische Reagentien z. B. KOH, Ca(OCl)₂, J+KJ eine ebenso grosse als traurige Rolle, indem die oft unbedeutenden Farbenreactionen, welche bei Behandlung der Flechten mit den genannten chemischen Körpern hervorgerufen werden, die Begierde, „neue Arten“ aufzustellen, nur unterstützen. Unzählig sind schon die „Arten“, welche nur durch die Einwirkung der Jodlösung auf das Hymenium charakterisirt werden, und in jedem Jahre wächst deren Anzahl in einem geradezu beunruhigenden Grade.

Man sollte meinen, dass unter solchen Umständen die Kenntniss von den chemischen Bestandtheilen der Flechten eine besonders gute wäre. Dies ist jedoch keineswegs der Fall. Der beschreibende Lichenolog bekümmert sich jetzt nicht um die chemischen Bestandtheile der Flechten; für ihn ist es vollständig hinreichend, zu wissen, ob z. B. das Hymenium durch gewisse Reagentien blau, roth, gelb oder erst blau und dann roth gefärbt wird, damit allein werden ja schon die Charaktere für vier „Arten“ gegeben.

Als Lichenolog habe ich schon längst gewünscht, auf diese Fragen meine specielle Aufmerksamkeit lenken zu können. Eine passende Gelegenheit, mikrochemische Untersuchungen über Flechten anzustellen, bot sich mir indess im pflanzenphysiologischen Institute zu Wien, wobei ich den grossen Vortheil hatte, unter Anleitung des Professors Dr. J. Wiesner zu arbeiten,

welcher mir das grösste Entgegenkommen bezeugte und mir mit Rath und Anregungen behilflich war, wofür ich ihm hier meinen ergebensten Dank abstatte. Obgleich meine theilweise auch die Pilze und Algen berührenden mikrochemischen Studien noch nicht abgeschlossen sind, übergebe ich nachstehende unbedeutende Untersuchungen schon jetzt der Öffentlichkeit, da ich für die nächste Zeit diese Studien fortzusetzen keine Gelegenheit habe.

1. Über das Vorkommen verholzter Membranen bei Flechten und Pilzen.

Schon Schacht gibt an, dass die Membranen gewisser Pilze ¹ verholzen, und, obgleich er keine bestimmte Flechte nennt, bei denen dies der Fall sei, sagt er jedoch, ² dass auch in dieser Gruppe bisweilen Verholzung der Membranen vorkomme.

Durch Wiesner wurde später ein zuverlässigeres Reagens auf „Lignin“ in die Mikrochemie eingeführt. ³ Im Anilinsulphat fand er nämlich einen Körper, welcher, im Wasser gelöst, Holz und verholzten Membranen (z. B. der Jutfaser, Gefässe der gelben Rübe) eine höchst charakteristische gelbe Färbung gibt. Bei Behandlung mit diesem Reagens fand er auch in den Membranen gewisser, nicht näher bezeichneter Flechten eine schwache gelbe Färbung, welche von einer geringen Verholzung der Membranen herrühren sollte. ⁴

Alsdann hat Burgerstein, der einen ausführlichen Bericht über das Vorkommen der Verholzung im Pflanzenreich lieferte, ⁵

¹ *Polyporus* (p. 35), ein nicht näher bestimmter Parasitenpilz („wahrscheinlich verholzt“ p. 162), *Polyporus igniarius* („eine dem Holzstoff verwandte Substanz“ p. 168), *Tuber cibarium* (p. 169), *Helvella esculenta* („Holzstoff oder eine dem letzteren nahe verwandte Verbindung“ p. 172). Schacht, Anatomie und Physiologie der Gewächse. Berlin 1856.

² L. c. p. 256.

³ Anatomisches und Histochemisches über das Zuckerrohr, p. 120 (Karsten, Botanische Untersuchungen. Bd. I. Berlin 1867). — Wiesner, Technische Mikroskopie, p. 64, 219. Wien 1867.

⁴ Die Rohstoffe des Pflanzenreiches, p. 30. Leipzig 1872.

⁵ Untersuchungen über das Vorkommen und die Entstehung des Holzstoffes in den Geweben der Pflanzen, p. 4, 5 (Sitzungsber. der kais. Akad. d. Wissensch. Bd. 70. Wien 1874).

eine ziemlich grosse Anzahl von Pilzen und Flechten mit Anilinsulphat untersucht. Bei allen untersuchten Pilzen und bei den meisten Flechten blieben die Hyphen ungefärbt, während die Membranen einiger Flechten in geringem Grade gelb gefärbt und daher als schwach verholzt angesehen wurden.

Bald fand man eine Menge neuer Reagentien auf „Lignin“: Phloroglucin, Indol, Resorcin, Phenol-Salzsäure, Paratoluidin, Pyrogallin, Orcin und andere, von welchen jedoch ausser der Phenol-Salzsäure nur das von Wiesner¹ in die Mikrochemie eingeführte Phloroglucin und das von Niggel² empfohlene Indol in Gebrauch gekommen zu sein scheinen.

Niggel, welcher mit Indol und H_2SO_4 die Verbreitung der Verholzung im Pflanzenreiche studirte, hat in dieser Hinsicht auch Pilze und Flechten untersucht und fand bei mehreren Arten sowohl jener als dieser mehr oder weniger roth gefärbte Membranen, woraus er das Vorkommen von Verholzung in den Membranen der betreffenden Arten erschliesst.

Jüngst hat Harz,³ offenbar ohne Niggel's vorerwähnte Abhandlung zu kennen, mit Anilinsulphat und Phloroglucin in Verbindung mit HCl eine grössere Anzahl Pilze auf Verholzung untersucht, aber in allen Fällen ein negatives Resultat erhalten, ausgenommen bei *Elaphomyces cervinus* H. K., bei welchem er das Vorkommen von „Lignin“ in den Membranen gewisser Zellen für unzweifelhaft hält.

Burgerstein, Niggel und Harz haben zum Theile dieselben Arten untersucht, und stimmen die gewonnenen Resultate allerdings im Allgemeinen überein, weisen jedoch in gewissen Fällen keine gehörige Übereinstimmung auf, wie aus folgender Zusammenstellung hervorgeht.

¹ Das Verhalten des Phloroglucins und einiger verwandter Körper auf verholzte Zellmembranen (Sitzungsber. der kais. Akad. d. Wissensch. Bd. 77. Wien 1878).

² Das Indol als Reagens auf verholzte Membranen (Flora. Regensburg 1881). Auch separat als Inauguraldissertation erschienen.

³ Über das Vorkommen von Lignin in Pilzen (Botanisches Centralblatt von Uhlworm und Behrens. VI. Jahrg., Bd. 23. Kassel 1885. p. 371).

A. Pilze.

	Ligninreaction		
	Burgerstein	Niggel	Harz
<i>Mucor Mucedo</i> Mich.	keine	keine	keine
<i>Daedalea quercina</i> Pers. . . .	"	"	"
<i>Polyporus sulphureus</i>	"	"	"
" <i>fomentarius</i> Fr.	"	deutliche	"
" <i>officinalis</i> Fr.	"	"	"
<i>Aspergillus glaucus</i> Link	"	"	"
<i>Penicillium glaucum</i> Link . . .	"	keine	"

B. Flechten.

	Ligninreaction	
	Burgerstein	Niggel
<i>Cladonia furcata</i> (Huds.) . . .	schwache	deutliche
" <i>gracilis</i> (L.)	"	"
" <i>deformis</i> (L.)	keine	schwache
" <i>rangiferina</i> (L.)	"	keine
<i>Parmelia physodes</i> (L.)	"	deutliche
<i>Phycia ciliaris</i> (L.)	"	keine

Bei Vergleich der von Burgerstein, Niggel und Harz erzielten Resultate findet man: In mehreren Fällen, in welchen durch Indol und H_2SO_4 deutliche Färbung erzielt wurde, färbten sich die Hyphen mit Anilinsulphat nur schwach; in einem Falle gab Indol und H_2SO_4 schwache, aber Anilinsulphat gar keine Reaction, und in einem dritten gab Indol in Verbindung mit H_2SO_4 deutliche Reaction, aber weder Anilinsulphat noch Phloroglucin und HCl irgend eine solche.

Auch mag hervorgehoben werden, dass sowohl *Cetraria islandica* (L.) als *Cladonia rangiferina* (L.), bei welchen beiden Arten der Thallus durchwegs aus Hyphen besteht, welche mit Jod blau gefärbt werden, nach Burgerstein und Niggel schwach verholzte Hyphen besitzen. Bei diesen beiden Arten würden demnach die Hyphen gleichzeitig aus jodblauendem Lichenin¹ (Dextrolichenin Flückiger) und „Lignin“ bestehen.

¹ Unter den Botanikern scheinen die Untersuchungen von Th. Berg (Zur Kenntniss des in der *Cetraria islandica* vorkommenden Lichenins und jodblauen Stoffes. Inauguraldissert. Dorpat 1872) unberücksichtigt geblieben zu sein, wonach zwei Arten von Lichenin: „jodblauer

Unter solchen Verhältnissen scheint eine erneuerte Untersuchung der angegebenen Verholzung bei Flechten- und Pilzhyphen erwünscht zu sein, besonders da die Verholzung bei den Flechten nicht unter Anwendung der für diesen Zweck jedenfalls besten Reagens: Phloroglucin in Verbindung mit HCl studirt wurde. Zuerst mögen jedoch einige allgemeine Bemerkungen über das „Lignin“ und dessen Reagentien vorausgeschickt werden.

Vor Langem schon waren die verholzten Zellenmembranen Gegenstand der Untersuchungen sowohl der Botaniker als der Chemiker, ohne dass jedoch die Natur der „Verholzung“ ermittelt wurde. Man war der Ansicht, dass die verholzten Zellenmembranen einen durch chemische Umwandlung gebildeten hypothetischen Körper „Lignin“ enthielten. Bis jetzt ist es noch Niemand mit Sicherheit gelungen, diesen Körper darzustellen,

Stoff“ (Dextrolichenin, Flechtenstärke, Lichenin-Cellulose, Stärke-Cellulose) und nicht jodblauendes Lichenin bei gewissen Flechten vorkommen. Das Vorhandensein des Dextrolichenins bei den Flechten sowohl im Hymenium, als in den sterilen Theilen des Thallus ist freilich verhältnissmässig sehr wohl studirt, aber von der Verbreitung des nicht jodblauenden Lichenins scheint sehr wenig bekannt zu sein. Ebenso wenig hat man untersucht, in welchem Verhältnisse der bei vielen Flechten und Pilzen im Hymenium vorkommende Körper, welcher mit Jod weinroth gefärbt wird, zum Dextrolichenin steht. Nach Th. Berg's Methode habe ich von *Cetraria islandica* (L.) sowohl das Dextrolichenin als das nicht jodblauende Lichenin dargestellt. — Im Zusammenhang mit der Frage von den chemischen Bestandtheilen der Flechtenhyphen mag erwähnt werden, dass ich nach C. Richter's Methode (Beiträge zur genaueren Kenntniss der chemischen Beschaffenheit der Zellmembranen bei den Pilzen. Sitzungsber. der kais. Akad. d. Wissensch. Bd. 83. Wien 1881) die Hyphen mehrerer Flechten und zweier Pilze von „incrustirenden Substanzen“ mit KOH zu reinigen versuchte, um nachher Cellulose-Reaction zu erhalten. Folgende Flechten und Pilze wurden untersucht: *Cetraria islandica* (L.), *Evernia vulpina* (L.), *Parmelia saxatilis* (L.), *Peltidea aphthosa* (L.), *Peltigera canina* (L.), *Ramalina pollinaria* Ach., *Usnea longissima* Ach., *Xanthoria parietina* (L.), *Agaricus campestris* Fr. und ein *Pezizopus*. Nur bei *Peltigera canina* (L.) und *Agaricus campestris* Fr. färbten sich die Hyphen freilich schon nach vier Wochen, aber weder bei jener noch bei dieser Art wurden sie in Kupferoxydamoniak gelöst. Die beim Versuche angewandte KOH war die ersten Wochen etwa 7—8₀ stark, nachher 20—30₀.

welcher, wie es scheint, aus mehr Kohlenstoff und Wasserstoff als Cellulose besteht, über dessen chemische Zusammensetzung im Übrigen aber die Ansichten getheilt sind.

Indessen wurde in der letzten Zeit die Kenntniss der Natur der Verholzung und der „incerustirenden Substanzen“ wesentlich erweitert, speciell durch Untersuchungen, welche unter Wiesner's Anleitung von Singer¹ im pflanzenphysiologischen Institute in Wien ausgeführt wurden. Aus den Untersuchungen Höhnel's² und Singer's geht hervor, dass in verholzten Membranen ein Glycosid Coniferin, so weit bis jetzt bekannt ist, constant vorkommt. Zudem Singer (l. c.) fand, dass auch das aus Coniferin abspaltbare Aldehyd Vanillin nebst einem von HCl gelb gefärbten, mit H₂O extrahirbaren Körper von unbekannter chemischer Zusammensetzung ein in Holzsubstanz constant vorkommender Bestandtheil ist. Schliesslich hat Thomson³ bei verschiedenen Holzarten eine „incerustirende Substanz“ Holzgummi gefunden, welcher nach Singer dem Arabin nahe steht, und dessen Verbreitung sich anseheinend auf alle verholzten Membranen erstreckt. „In welcher Beziehung diese Körper zu dem hypothetischen Lignin stehen, kann auf Grund der gemachten Untersuchungen nicht entschieden werden. Allein die Art und Weise, wie sich dieselben einer nach dem anderen aus dem Holze durch Wasser entfernen liessen, macht es wahrscheinlich, dass das, was man Lignin nennt, ein Gemenge von mehreren chemischen Individuen darstellt. Ob diese Annahme richtig, und ob die „incerustirende Substanz“ mit den hier aufgezählten Körpern und dem Holzgummi erschöpft ist, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.“⁴

Unter denjenigen Substanzen, welche zur Entdeckung von „Lignin“ angewendet werden, reagiren, wie Singer nach-

¹ Beiträge zur näheren Kenntniss der Holzsubstanz und der verholzten Gewebe. (Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wissensch. Bd. 85. Wien 1882.)

² Histochemische Untersuchungen über das Xylophilin und das Coniferin. (Sitzungsber. der kais. Akad. d. Wissensch. Bd. 76. Wien 1877.)

³ Chemische Untersuchungen über die Zusammensetzung des Holzes, p. 148. (Kolbe u. Meyer, Journ. für praktische Chemie. Bd. 19. Leipzig 1879.)

⁴ Singer l. c. p. 260.

gewiesen hat. Anilinsulphat, Phloroglucin in Verbindung mit HCl oder H_2SO_4 und Indol in Verbindung mit H_2SO_4 auf Vanillin¹, wogegen Phenolsalzsäure auf Coniferin² reagirt. Singer weist mit Recht darauf hin, dass die Farbenveränderungen, welche durch die Behandlung reinen Vanillins mit „Lignin“-Reagentien entstehen, nicht immer vollständig übereinstimmen mit jenen, welche diesen Stoff in verholzten Membranen oder in wässerigen Holzextracten hervorrufen, indem nämlich Vanillin mit Phloroglucin mit H_2SO_4 eine ziegelrothe, mit Resorcin und derselben Säure eine zinnoberrothe Farbe gibt, während verholzte Gewebe durch das erstgenannte Reagens roth bis violett und durch das letztere je nach der Menge der assistirenden Säure violett oder violettroth gefärbt werden. Diese abweichende Färbung kann jedoch durch das Vorkommen anderer Substanzen in verholzten Geweben, welche bis zu einem gewissen Grad auf die Färbung modificirend wirken, erklärt werden.

Nach Singer sind indessen die durch Phloroglucin und HCl, Anilin, Pyrol und Indol in Verbindung mit der zugehörigen Säure mit Vanillin oder in verholzten Geweben hervorgerufenen Reactionen vollständig gleich. Das ist auch richtig (mit Pyrol habe ich keine Untersuchungen vorgenommen), aber es scheint doch, als müsse die Färbung bei Anwendung reinen Vanillins bedeutend intensiver sein, als wenn es verholzte Gewebe betrifft, in welchen Vanillin in äusserst geringer Menge vorkommt; eher wird Holz intensiver als reines Vanillin mit den genannten Reagentien gefärbt. Dieses unerwartete Verhältniss tritt noch deutlicher hervor, wenn Vanillin in einer Flüssigkeit gelöst wird. Eine wässrige, stark nach Vanillin riechende Lösung gab nach Zusatz von Anilinsulphat keine gelbe Färbung; auch nach Zusatz von Phloroglucin oder Indol in Verbindung mit

¹ C. Etti hat diejenige Verbindung, welche bei Einwirkung von Phloroglucin auf Vanillin erzeugt wird, und welche er Phloroglucivanillin nennt, näher untersucht. Siehe hierüber Etti, Über Verbindungen des Vanillins mit Pyrogallol und Phloroglucin (Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wissensch. Bd. 86. Wien 1882).

² Th. Hartig, Jahrb. für Förster. Bd. I. p. 263. 1861. — (Nach Singer citirt.) Kugel im Journal für Chemie von Beilstein, Fittig und Hübner. 1866, p. 399.

assistirender Säure konnte zuerst keine oder nur eine undeutliche Färbung wahrgenommen werden, welche aber (bei Anwendung des Indols) nach einigen Stunden ersichtlicher wurde. Die durch Anilinsulphat bei verholzten Membranen verursachte gelbe Färbung und die durch Phloroglucin oder Indol in Verbindung mit gehöriger Säure hervorgerufene rothviolette Färbung dürfte demnach kaum allein dem Vanillin zuzuschreiben sein, sondern die Färbungen dürften auch von anderen in den verholzten Membranen vorkommenden, noch nicht näher studirten „incrustirenden Substanzen“ erzeugt werden. Da indessen Vanillin und Coniferin, so weit bis jetzt bekannt ist, constant in den verholzten Membranen vorkommen, können die oben genannten auf Vanillin und Coniferin reagirenden Körper für den Nachweis der Verholzung angewendet werden.

Eine grosse Anzahl von Flechten, unter diesen alle oben aufgezählten, sowie mehrere Pilze (z. B. *Elaphomyces granulatus* H. K., *Trametes suaveolens* und mehrere *Polyporus*-Arten) wurden theils mit Anilinsulphat, theils mit Phloroglucin und HCl behandelt.

Was zuerst die Anwendung von Anilinsulphat betrifft, so würde in keinem Falle „Lignin“-Reaction erhalten. Indessen kann man bisweilen, z. B. bei *Alectoria ochroleuca* (Ehrh.) *α. rigida* (Vill.) eine gelbe Färbung wahrnehmen, aber es ist leicht nachzuweisen, dass diese nicht auf Verholzung beruht. Überdies scheinen bisweilen die Hyphen und Schnitte durch den Thallus der Archilichenen schon an und für sich etwas gelb gefärbt, und Täuschungen sind bei Anwendung des Anilinsulphats in solchen Fällen erklärlich.

Grössere Vortheile bietet das weit empfindlichere Phloroglucin und HCl, aber auch damit konnte bei den geprüften Flechten und Pilzen keine Verholzung wahrgenommen werden. Nicht einmal bei *Elaphomyces granulatus* H. K., welcher besonders erwähnt werden mag, da, wie bemerkt, Harz jüngst bei diesem das Vorkommen von Verholzung behauptet hat. Das Peridium besteht bei dieser Art aus zwei, deutlich verschiedenen Schichten: die äussere ist aussen braun, innen gelb, die innere ungefärbt, weicher und dieker. Nach Harz kommt in der äusseren und mit ihr parallel verlaufend, in einiger Entfernung

von der Oberfläche eine harte, gelbe Zone vor, welche durch Anilinsulphat stark gelb gefärbt, durch Phloroglucin und HCl lebhaft geröthet wird, und es liegt demnach nach dem erwähnten Verfasser hier unzweifelhaft ein Fall von echter Verholzung bei einem Pilz vor. Bei dem von mir mit Anilinsulphat untersuchten Exemplar trat die Färbung dieser gelben Schichte nicht deutlicher hervor, auch nahm dieselbe weder mit Phloroglucin und HCl, noch mit Indol und H_2SO_4 rothe Färbung an.

Allerdings fand Singer, dass Indol, auf 0·0007% verdünnt, noch das Fichtenholz färbte, während für das Phloroglucin nach Wiesner die Empfindlichkeitsgrenze bei 0·001% liegt,¹ aber hieraus folgt nicht mit Nothwendigkeit, dass umgekehrt ein geringerer Grad von Verholzung sicherer durch Indol als durch Phloroglucin nachgewiesen werden kann. Allerdings wäre dies möglich, und dann wäre es erklärlich, warum Niggel mit Indol und H_2SO_4 das „Lignin“ nachweisen konnte, wo es mit Phloroglucin und HCl nicht zu entdecken war.

Um darüber ins Klare zu kommen, ob Indol oder Phloroglucin ein empfindlicheres Reagens auf Vanillin sei, verfuhr ich auf folgende Weise. Einige dünne Späne von Fichtenholz wurden im Luftbad bis auf 220° C. erhitzt, wobei ein deutlicher Vanillengeruch wahrgenommen wurde. Hernach zeigte Phloroglucin mit HCl deutliche, Indol mit H_2SO_4 äusserst undeutliche Reaction. Die Temperatur wurde alsdann bis zu 228° C. erhöht. Mit Phloroglucin konnte Vanillinreaction noch wahrgenommen werden, mit Indol jedoch nicht. Demnach scheint Phloroglucin ein empfindlicheres Reagens als Indol zu sein.

Die mit Anilinsulphat und Phloroglucin geprüften Flechten wurden auch mit Indol und H_2SO_4 behandelt. Einige — z. B. *Lobaria pulmonaria* Hoffm., *Lecanora pallescens* (L.) — färbten

¹ Singer l. c. p. 358. Schon Runge hat diese ausserordentliche Empfindlichkeit der Anilin- und Pyrolsalze hervorgehoben. Nach ihm (Annalen der Physik und Chemie von Poggendorff. Bd. 31, p. 66, 67. Leipzig 1834) ist Fichtenholzfärbung durch Anilinsalze so stark, dass ein Tröpfchen, welches nur $\frac{1}{500000}$ Anilin enthält, noch eine bemerkbare Gelbfärbung auf dem Holze hervorbringt. Noch empfindlicher sind nach Runge (l. c. Bd. 32, p. 332) Pyrolsalze, indem mittelst des salzsauren Fichtenholzes nur 0·000001 Pyrol zu entdecken ist.

sich nach wenigen Minuten schwach roth und nahmen nachher eine starke rothe Färbung an, die übrigen färbten sich jedoch, allerdings erst nach ungefähr 20 Stunden, durchwegs roth, obgleich die Farbe bei verschiedenen Arten in Bezug auf Intensität und Nuancirung wechselte. Dieselben Flechten wurden mit Indol und HCl behandelt und auch hierbei trat früher oder später in allen Fällen Rothfärbung ein.

Schon aus Niggel's eigenen Untersuchungen geht hervor, dass mit Indol und H_2SO_4 auch in anderen Fällen, als da, wo Verholzung vorhanden ist, Färbung eintritt. So wird nach ihm der Zellinhalt in den Brennhaaren von *Urtica* mit Indol und H_2SO_4 durchgängig roth gefärbt.¹ Niggel gibt auch an, dass die Cuticula an sehr jungen Sprossen von *Aesculus Hippocastanum* L., *Acer Pseudoplatanus* L. und *Hippuris vulgaris* L. roth gefärbt wird, aber „da in älterem Zustande diese Rothfärbung nicht bemerkbar war, so kann wohl keine Verholzung angenommen werden, und die Färbung dürfte sich eher durch ein Durchdringen plasmatischer oder anderer Stoffe erklären lassen“.²

Auch andere Substanzen als „Lignin“ färben sich demnach mit Indol und H_2SO_4 roth. Aus Anlass dieser Thatsache wurden andere Körper: Kartoffelstärke, Weizenstärke, Gummi arabicum, Baumwolle und Rohrzucker mit Indol und H_2SO_4 behandelt, wobei im Allgemeinen schon nach $\frac{1}{4}$, bisweilen erst nach 1 Stunde eine schwache rothe Färbung eintrat. Nach 20 Stunden waren die beiden ersten Körper schön rosa gefärbt, Gummi schwach und spärlich roth gefärbt, Baumwolle schwach, aber durchaus gefärbt und der Rohrzucker in eine röthliche Flüssigkeit aufgelöst. Ja, eine verdünnte Indollösung färbte sich sogar nach Zusatz von H_2SO_4 allein schwach roth, aber die Farbe war in diesem Falle schwächer als bei Anwesenheit der eben erwähnten Körper.

Indol muss in Folge dessen als Reagens auf „Lignin“ mit grösster Vorsicht angewendet werden, da ja auch andere als verholzte Stoffe mehr oder weniger lebhaft roth gefärbt werden.

¹ Niggel l. c. p. 560.

² Niggel l. c. p. 549, 562 Note.

Die rothe Farbe, welche Flechten nach Behandlung mit Indol in Verbindung mit H_2SO_4 zeigen, braucht nicht auf Verholzung zu beruhen, und die Behandlung dieser Flechten mit Phloroglucin und HCl zeigte leicht, dass Verholzung in diesen Fällen nicht vorkommt.

2. Das Verhalten der Zellwand zu Raspail's und Millon's Reagens.

Dass Lichenin bei Behandlung mit einer Säure sehr leicht in Zucker umgewandelt wird, ist durch Stenberg's Untersuchungen bekannt.¹ Man konnte demnach vermuthen, dass die rothe Farbe, welche Flechten bei Behandlung mit H_2SO_4 (ohne Indol) zeigen, auf Raspail's Reaction beruhe. Es glückte mir nämlich bisweilen, die Membranen der Hyphen von *Cladonia gracilis* (L.) und *Lobaria pulmonaria* Hoffm. mit H_2SO_4 schwach roth zu färben, wesshalb man vielleicht annehmen könnte, dass die Säure das Lichenin in Zucker verwandelt, welcher mit der Säure und Eiweisskörpern Raspail's Reaction gibt. Fortgesetzte Versuche in dieser Richtung gaben indessen nur negative Resultate, vielleicht darauf beruhend, dass ein passender Concentrationsgrad der Säure nicht angewendet wurde. Ich untersuchte daher mit Millon's Reagens mehrere Flechten, Pilze und Algen. Von ersteren wurden besonders solche mit dicken Membranen gewählt; bei den meisten konnte ich eine mehr oder weniger deutliche Rothfärbung constatiren. Besonders bei *Lobaria pulmonaria* Hoffm. und *Peltigera canina* (L.) wurden die Membranen deutlich ziegelroth gefärbt.

Von den untersuchten Pilzen (*Polyporus*- und *Agaricus*-Arten) wurde wohl der Zellinhalt gefärbt, aber deren Membranen waren zu dünn, um eine Färbung hervortreten lassen zu können. Prof. Wiesner hat mir indessen gütigst mitgetheilt, dass er bei den Membranen von *Polyporus fomentarius* Fr. die auf Eiweiss deutende Xanthoproteinsäure-Reaction deutlich gesehen hat.

Von Algen wurden *Gelidium cartilagineum*, *Ecklonia bacata* und *Enchema spinosum* untersucht. Hier trat bei Anwendung

¹ Flora 1869, p. 517.

von Millon's Reagens die rothe Farbe in den Membranen sehr deutlich hervor; speciell war dies der Fall in den äussersten im Thallus liegenden Zellschichten.

Inwieweit diese Reactionen darauf beruhten, dass in den Membranen Eiweisskörper vorhanden waren, mag ein fortgesetztes Studium dieser Frage darlegen. Indessen stehen meine Untersuchungen im Einklange mit den Resultaten, zu welchen Wiesner¹ in Betreff der Organisation der vegetabilischen Zellwand gelangte, denen zufolge die letztere, zum mindesten so lange sie wächst, Protoplasma enthält.

¹ Untersuchungen über die Organisation der vegetabilischen Zellwand (Sitzungsber. der kais. Akad. d. Wissensch. Bd. 92. Wien 1886).
